

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—169504

⑬ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和59年(1984) 9月25日

B 01 D 9/04

2126—4D

A 61 K 35/18

7138—4C

39/02

7043—4C

39/09

7043—4C

39/12

7043—4C

39/165

7043—4C

G 01 N 33/48

E 8305—2G

33/54

C 7906—2G

発明の数 1

審査請求 未請求

(全 2 頁)

⑮ 凍結乾燥物の製造法

東京都新宿区下落合 4 丁目 6 番
7 号富士臓器製薬株式会社内

⑯ 特 願 昭58—44351

⑰ 出 願 人 富士レビオ株式会社

⑱ 出 願 昭58(1983) 3 月18日

東京都新宿区下落合 4 丁目 6 番
7 号

⑲ 発 明 者 大鳥居昌美

明 細 書

1. 発明の名称

凍結乾燥物の製造法

2. 特許請求の範囲

粒状氷結物を、0° C 以下の温度において減圧下で乾燥する凍結乾燥物の製造法において、上記粒状氷結物が、水溶液、水性懸濁液または水性乳濁液を液体窒素のような低温液体中に滴下または噴霧することによって形成せしめたものであることを特徴とする上記凍結乾燥物の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は凍結乾燥物の製造法に関し、さらに詳しくいえば、水溶液、水性懸濁液または水性乳濁液を液体窒素のような低温液体中に滴下または噴霧することによって形成せしめた粒状の氷結物を、0° C 以下の温度において減圧下で乾燥することからなる凍結乾燥物の製造法に関する。

本発明の方法を風疹ウイルスの水性懸濁液を例に用いて詳細に説明する。

風疹ウイルスを培養したろ液から、風疹ウイルスを精製したもの（以下 精製ウイルスと省略する）に活性の保護剤および賦形剤として牛血清アルブミンを添加し、バルビタール緩衝液を用いて赤血球凝集活性が4単位になるように精製ウイルス水性懸濁液を調製した。

適当な容器に入れた液体窒素の中にも上記精製ウイルス水性懸濁液を、25 マイクロリットルずつマイクロドロップを用いて滴下すると、瞬時に粒状の氷結物が形成される。氷結物が互いに結合することをさけるために、液体窒素の容器は外部からローターなどで振動を与えておく。

この氷結物を液体窒素中からすくい上げて、棚温度を-40° C に冷却した凍結乾燥機に入れ、減圧下で16時間乾燥して精製風疹ウイルス粒状凍結乾燥物を得た。このようにして得た粒状氷結物の凍結乾燥物は、氷結するさいに大きな表面積で瞬時に氷結し、そのままの形状で乾燥するので、精製風疹ウイルスの赤血球凝集活性は低下せず、また、復元時の溶解性がすぐれている。

上記精製風疹ウイルス粒状凍結乾燥物は、25 マイクロリットルの蒸留水を用いて復元したとき、凍結乾燥前と同様に4単位の赤血球凝集活性を保っているこ

BEST AVAILABLE COPY

とがわかった。

本発明は風疹ウイルスにかぎらず、細菌、細胞、血清、体液、酵素、合成ポリマーその他の水溶液、水性懸濁液または水性乳濁液から凍結乾燥物をつくる場合にも用いることができる。

また、分配の単位は上記のような赤血球凝集活性単位に限らず、重量、活性、または用量当りの細胞数などの単位で所望の凍結乾燥物として得られる。

氷結の方法としては上記の液体窒素に限らず、ドライアイス・アセトン、フルオロカーボンなどを用いることもできる。

下記に本発明の実施例を示す。

実施例 1

羊赤血球を洗浄したのちホルムアルデヒドを添加した生理的食塩液で固定し、次いで10-20ppmのタンニン酸をカップリング剤として含有するリン酸緩衝食塩液を用いて処理した。

上記のように調製した羊赤血球（担体）を2.5% w/vとしてリン酸緩衝食塩液中に浮遊させ、この1容とヒトイムノグロブリン（30mg/dl）1容とを37℃の恒温槽中で1時間インキュベートし、遠心沈殿した後2回洗浄した羊赤血球を2.5% w/vの

凍結乾燥機に入れ、16時間減圧下で凍結乾燥し、目的とする赤血球凍結乾燥物を得た。

実施例 3

溶連菌培養液から硫酸法により蛋白質を沈殿させ、この蛋白部分からさらにカラムクロマトグラフィー法によってストレプトキナーゼを得た。ストレプトキナーゼ活性10,000U/mlに調整した水溶液を10マイクロリットルずつ液体窒素中に滴下し、形成された氷結物を、実施例1と同様に棚温度を-40℃に冷却した凍結乾燥機に入れ、16時間減圧下で凍結乾燥し1滴当り100Uのストレプトキナーゼ活性を有する凍結乾燥生成物を得た。

実施例 4

コールターカウンターを用いて10個/50mlのA群溶血性連鎖球菌浮遊液を調製した。ミキサーを用いて均質に分散させながらドライアイス・アセトン中に50マイクロリットルずつ滴下し、氷結した微粒子をた。これを金網を用いて冷媒中から取り出し冷却した容器中に1つずつ分配し、棚温度を-30℃以下に冷却した凍結乾燥機を用いて減圧下で10時間凍結乾燥して所望の凍結乾燥物を得た。

上記の方法で50マイクロリットル中に10個の

濃度で凍結乾燥の保護剤としてアミノ酸、牛血清アルブミンを添加したリン酸緩衝食塩液に浮遊せしめ、均質になるように攪拌したのち、液体窒素浴中にマイクロドロッパーを用いて25マイクロリットルずつ滴下した。この際、液体窒素浴槽は外部から振動を与えておく。滴下した小滴は液体窒素浴中で瞬間的に最小体積の形状で氷結した。この氷結物を液体窒素浴中から金網ですくいあげてバイアル瓶に入れ、棚温度を-40℃に冷却した真空凍結乾燥機に入れて12時間減圧下で凍結乾燥をおこない、目的とするヒトイムノグロブリン感作赤血球凍結乾燥物をえた。

実施例 2

鳥類、哺乳類の赤血球を洗浄し2%グルタルアルデヒドを添加した生理的食塩液を用いて固定したのち残余のグルタルアルデヒドを遠心分離によって洗浄除去し、赤血球の膜構成成分の失活を防止する目的でアミノ酸、糖、牛血清アルブミンを保護剤として用い、この中に赤血球を10% w/vで浮遊させ赤血球懸濁液を得た。これを、ドライアイス・アセトン中にマイクロビベットまたは点滴装置を用いて50マイクロリットルずつ滴下した。氷結物は、実施例1と同様に金あみを用いてすくい上げ、棚温度を-40℃に冷却した

菌数を有するA群溶血性連鎖球菌凍結乾燥物を得た。

特許出願人

富士臓器製薬株式会社



BEST AVAILABLE COPY